

Producción de biomasa microalgal enriquecida con selenio ligado orgánicamente a proteínas. Revisión.
Isabella Avila^a, Dayana Florez^a, Erika Yuliana Ortiz Montoya^b, Nelson Hernando Caicedo Ortega^c

^a Est. Ingeniería Bioquímica, Universidad Icesi.

^b Profesor tiempo completo depto. Ingeniería Bioquímica, Universidad Icesi.

^c Jefe depto. Ingeniería bioquímica, Universidad Icesi.

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Keywords:

Microalgas

Selenio biodisponible

Arthrospira

Chlorella

Estrategias tecnológicas

Análisis bibliométrico

El selenio es un oligoelemento que contiene múltiples beneficios antioxidantes en los seres vivos. Una de las formas en que se adquiere orgánicamente este elemento es a través de organismos como las microalgas. Estas son cultivadas con suministros de selenio para generar la biotransformación de este elemento en formas orgánicas como selenoproteínas poder ser asimilables para los seres humanos y animales. Sin embargo, los estudios sobre las estrategias integradas para cultivar las microalgas y obtener la máxima incorporación de selenio orgánico en la biomasa son reducidos, debido a que se siguen continuamente en investigaciones y no hay una estrategia claramente establecida que maximice dicha biodisponibilidad. Por tanto este proyecto aporta información técnica detallada acerca de las estrategias tecnológicas que ayuden a incorporar orgánicamente el selenio en las microalgas del género *Arthrospira* y *Chlorella* por medio de revisión sistemática de literatura y análisis bibliométrico con R Studio. Como resultado se obtiene el conjunto de estrategias tecnológicas que evidencian que la fuente de selenio más utilizada es el selenito de sodio, las microalgas del género *Chlorella* obtuvieron la mayor cantidad de selenoproteínas a una concentración de aproximadamente 50 mg/L sin efecto tóxico ni inhibitorio, la estrategia de operación en batch, una temperatura alrededor de los 25 °C, un pH entre 6-9 y una intensidad lumínica interrumpida. Esta revisión presenta aspectos importantes alrededor del cultivo de microalgas enriquecidas con selenio a fin de establecer las estrategias que puedan ser usadas en la producción de biomasa destinada a la nutrición humana y animal.

1. Introducción

El selenio (Se) es un oligoelemento esencial que se requiere para mantener una salud adecuada en humanos y animales debido a su vínculo con varias funciones biológicas como el metabolismo de las hormonas tiroideas y en la defensa del estrés oxidativo. Además de esto, el selenio es el componente de algunas proteínas en el cuerpo humano que ayudan al buen funcionamiento de la espermatogénesis, al mantenimiento del cabello y uñas, así como también al funcionamiento normal del sistema inmunitario (Rayman, 2000). En su contraparte, la deficiencia del selenio puede causar riesgo a tener una enfermedad tiroidea (NIH, 2019), riesgo de enfermedad cardiovascular, incremento de infecciones virales, riesgos de infertilidad masculina (Rayman, 2000), entre otros. Por otro lado, la exposición en exceso a este nutriente también trae efectos negativos o tóxicos que van desde consecuencias leves como náuseas, vómitos y diarrea hasta pérdida de cabello, daño neurológico y trastornos gastrointestinales. Para mantener un nivel adecuado de este elemento, debe de ser ingerido en promedio en una concentración de 70 µg/día (Hernández-Mendoza & Rios-Lugo, 2009). Una disminución o aumento en esta concentración puede provocar deficiencias o efectos tóxicos (Q et al., 1983). Para obtenerlo de forma biodisponible, la fuente

principal de selenio es a través de la ingesta de alimentos como frutas, verduras, cereales, carnes, mariscos y productos lácteos. Sin embargo, hoy en día es complejo obtener la cantidad y concentración adecuada de este nutriente en la dieta, ya que en algunas regiones del mundo los suelos y cuerpos de agua han sido designados como deficientes en este nutriente mientras que otros se están volviendo tóxicos a causa del exceso (Rayman, 2000). Esta deficiencia o toxicidad se debe a cambios en condiciones de pH, lluvia o actividad bacteriana, pues modifican la solubilidad de especies inorgánicas de selenio como selenito (Se (IV)) y selenato (Se (VI)) y por ende la asimilación por parte de los organismos fotosintéticos (Li et al., 2021). Por tanto, actualmente se está optando por elaborar alimentos funcionales que contengan el selenio biodisponible entre las que se encuentran la biomasa de microalgas. La principal ventaja de estos microorganismos en la alimentación humana y animal es que además de transformar el selenio a estructuras orgánicas como selenometionina y selenocisteína para adquirirlo de forma biodisponible, también contienen una amplia gama de compuestos de alto valor nutricional. Esto hace que se considere como alimento funcional, es decir que esté dispuesto no solo a nutrir, sino también para la prevención de enfermedades (Gómez-Ariza et al.,2020).

Actualmente se están empleando diferentes estrategias tecnológicas para la producción masiva y procesamiento de microalgas enriquecidas con selenio. Entre las diferentes estrategias de operación se encuentra el procesamiento continuo o procesamiento por lotes. Uno de los estudios en los que se obtuvieron mejores resultados de la transformación fue en un fotobiorreactor por lotes propuesto por Otero González (Li et al., 2021). En el estudio se demostró la capacidad de las microalgas enriquecidas como posible alimento debido a la alta absorción y biotransformación del selenio inorgánico en selenoproteínas. Aproximadamente el 91% de selenito de sodio se transformó en selenoaminoácidos y como resultado el 63% del selenio fue bioaccesible para los animales.

Del mismo modo, se han investigado estrategias con funcionamiento en continuo como por ejemplo la realizada por Zivan Gojkovic el cual realizó una investigación sobre la producción de biomasa enriquecida con selenio de *Chlorella Sorokiniana* (Gojkovic et al., 2015). En donde demostró un cultivo eficiente de biomasa enriquecida de microalgas en el aminoácido de alto valor SetMet (21 ug/L dia). Consecuentemente, existen ventajas en la incorporación de selenio al interior de las células de microalgas relacionadas con el tipo de reactor (fotobiorreactor abierto o cerrado) o condiciones de cultivo (heterotrófico, mixotrófico, pH, iluminación, temperatura, entre otros) que se deben de tener en cuenta en conjunto para maximizar el selenio biodisponible.

Existen múltiples estudios relacionados con la producción de biomasa de microalgas enriquecidas con selenio donde se tienen en cuenta algunas de las estrategias anteriormente descritas (Luis García et al.,2020). Sin embargo, actualmente no están siendo establecidas todo el conjunto de estrategias tecnológicas (métodos de cultivo, sistemas de cultivo, concentraciones de selenio y condiciones de cultivo) que garanticen la máxima incorporación de selenio orgánico en las proteínas de microalgas destinadas a la alimentación.

En resumen, las microalgas han sido objeto de múltiples investigaciones para incrementar su producción y mejorar su calidad nutritiva al incorporar elementos esenciales como el selenio. Por tanto, este proyecto busca aportar información técnica detallada acerca del conjunto de estrategias tecnológicas en la producción de microalgas enriquecidas del género *Arthrospira* y *Chlorella* que permitan producir la mayor cantidad de biomasa y la absorción de selenio para la fijación orgánica al interior celular. Además, se contrastan los resultados encontrados en la literatura, donde se determina mediante un análisis bibliométrico con la herramienta R y junto con la matriz comparativa, las estrategias más apropiadas de cultivo para su óptimo crecimiento, teniendo en cuenta los fenómenos de absorción, toxicidad, bioacumulación y bioconversión del selenio.

2. Materiales y métodos

Se realizó una búsqueda bibliográfica en la base de datos Scopus disponible en el portal web de la Universidad Icesi. La búsqueda comprendió los artículos de los últimos 15 años debido a que en este rango se concentra la mayor parte de la producción científica (Fig. 4). Se utilizó el programa de R Studio para realizar un análisis bibliométrico de la base de datos escogida a fin de caracterizar la productividad anual y las palabras claves. Finalmente, se realizó la matriz comparativa para dar respuesta al objetivo de investigación. El contenido del proyecto sigue un flujo de trabajo el cual consiste en la búsqueda de información, el análisis descriptivo de las unidades de análisis, el análisis y visualización de los datos y la interpretación de los resultados. El método de revisión sistemática se llevó a cabo según la figura 1.

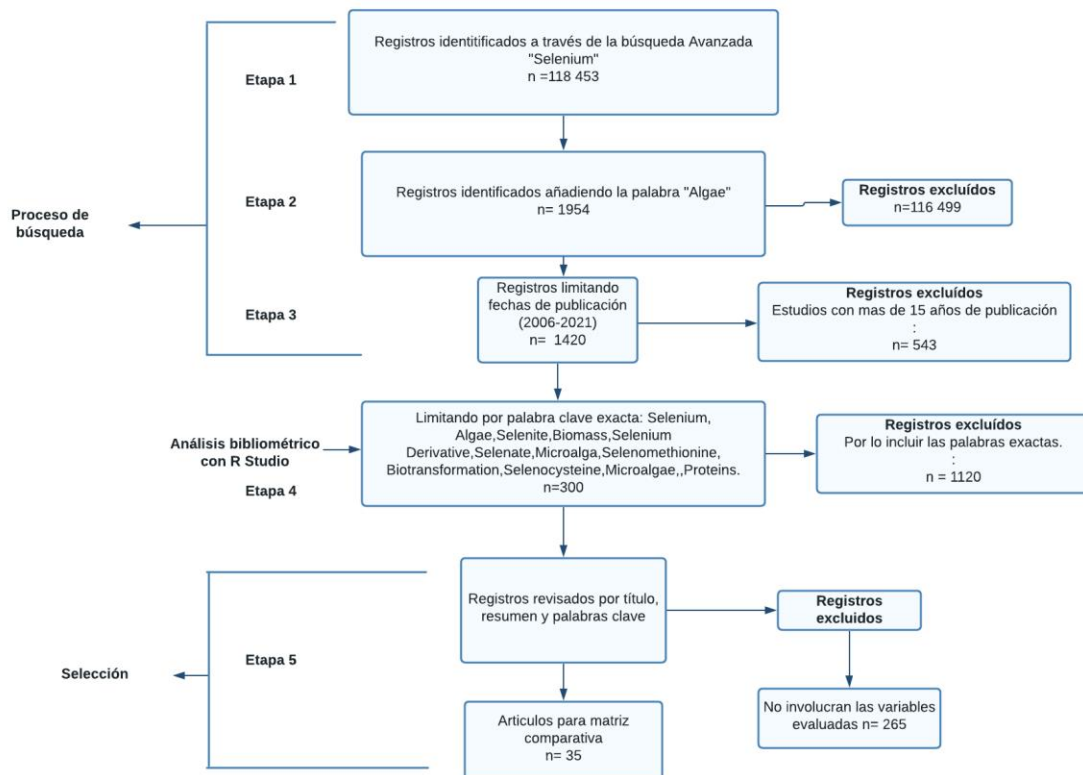


Fig. 1. Flujo de trabajo realizado para la búsqueda de información y el proceso de selección empleado

A continuación se describen los lineamientos más importantes de las etapas presentadas (Fig. 1) para la realización del proceso de revisión sistemática de literatura.

2.1 Investigación bibliográfica

El proceso consiste en realizar un barrido inicial de literatura que permita encontrar estudios relacionados con la temática principal de investigación que es “microalgas enriquecidas con selenio”. Para esto, en la sección de búsqueda avanzada de Scopus (TITLE-ABS-KEY) se usó la palabra “Selenium”, esta primera etapa de búsqueda arroja las publicaciones que

involucran en su temática el selenio. A partir de los resultados de la búsqueda previa, se añadió “Algae”. De forma que se logrará abarcar un amplio espectro de la temática de interés excluyendo los artículos que no incluyeran estos dos términos.

En la etapa 3 se delimita la búsqueda definiendo un intervalo temporal de publicación en este caso entre los años 2006-2021 (Fig. 4). De esta forma se identifica la mirada actual sobre la investigación y se evidencian las últimas metodologías empleadas alrededor de la temática, para así establecer las estrategias tecnológicas que han sido empleadas en la producción de microalgas con selenio ligado orgánicamente.

En segunda medida, se delimitó la búsqueda por palabras claves exactas (ver etapa 4, Fig. 1). Estas palabras se eligieron de forma que se incluyeran términos más afines al contexto de la problemática y a las microalgas como alimentos funcionales. Con los resultados de esta etapa se realizó el análisis bibliométrico con R Studio.

2.2 Análisis bibliométrico con R Studio

Los registros de la etapa 4 se extrajeron en formato Bibtex. Una vez descargados, se ingresaron a R Studio y fueron analizados. Para ello se usaron las funciones bibliométricas de bibliometrix como se indican en la Tabla 1. Este proceso se realizó con el fin de extraer las palabras claves mencionadas y las fechas de publicación por año. De forma que estos resultados sirvan para complementar y respaldar decisiones tomadas durante la metodología empleada. Además, permite conocer información sobre las estrategias recientes usadas en el cultivo de microalgas enriquecidas con selenio.

Tabla 1. Detalle de las funciones usada en R Studio

Detalle	Función de R usada	Gráfica
Palabras claves	library(bibliometrix) biblioshiny()	Documents-WordCloud-keywords
Producción anual de artículos	RStudio summary.bibliometrix Summarizing bibliometric analysis results	plot Annual Scientific Production

2.3 Selección de artículos

Finalmente se procedió a leer los títulos, resúmenes y palabras claves de los artículos con el objetivo de extraer toda la información necesaria de acuerdo a los criterios de selección escogidos mencionados en la tabla 2.

Tabla 2. Criterios de selección para los artículos

Variable	Criterio
Microorganismo	Incluye las microalgas del género <i>Arthrospira</i> y <i>Chlorella</i>
Modo de operación	El artículo especifica si es operación continua, lotes o lote repetitivo

Tipo de sistema empleado	Entornos naturales (lagos, lagunas o estanques) o fotobiorreactores (abiertos o cerrados)
Biotransformación de selenio	Incluye la concentración de selenio orgánico que se genera
Condiciones de operación	En el artículo se establece alguna de las condiciones de cultivo como tipo de selenio añadido, temperatura, pH, intensidad lumínica y/o nutrientes añadidos

2.4 Matriz comparativa acerca de las estrategias usadas

Se realizó una lectura de los artículos de la etapa 5 (Fig. 1). De cada artículo se extrajeron los datos de las variables mencionadas en la tabla 2. Los datos se organizaron y se presentaron en una matriz comparativa que será presentada al final del documento.

3. Resultados y discusión

3.1 Palabras claves

Con el objetivo de realizar la revisión sistemática de literatura y además extraer las estrategias tecnológicas de cultivo más usadas en las microalgas enriquecidas, primero se evaluó la producción de artículos relacionados con esta temática usando la interfaz de R llamada biblioshiny. La figura 2 representa el ranking de palabras claves más utilizadas alrededor de la base de datos obtenida y la tabla 3 el índice de frecuencia de las palabras claves.

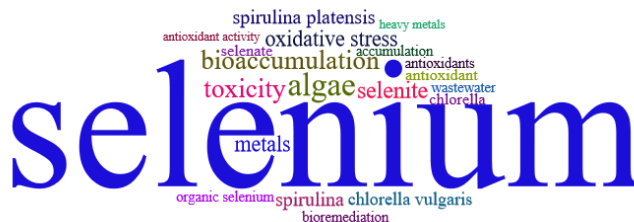


Fig. 2. Resultados de las palabras claves relacionados con la base de datos

Tabla 3. Resultados de las palabras claves relacionados con el índice de frecuencia

Término	Frecuencia
Selenio	397

No-humano	131
Artículo	123
Algae	110
Metabolismo	90
Bioacumulación	80
Estudio controlado	75
Chlorella Vulgaris	73
Compuestos de selenio	69
Biomasa	68

Se observa que las principales palabras claves de esta búsqueda están relacionadas con el tema de la investigación (Fig. 2), lo cual indica que los artículos que se están estudiando si corresponden y se relacionan con la temática establecida de microalgas enriquecidas con selenio e involucran otras variables como toxicidad y bioacumulación.

Los resultados para este estudio muestran que la principal palabra destacada en los artículos de la base de datos obtenida es “selenium”, seguido de esto y para nuestro interés en el objetivo de investigación está “algae”. Estas palabras nos permitieron enfocar y afinar la búsqueda para obtener la matriz comparativa con las metodologías más usadas.

3.2 Productividad Anual

Se realizó un análisis de productividad científica anual alrededor del tema para delimitar por años los artículos encontrados (Fig. 4)

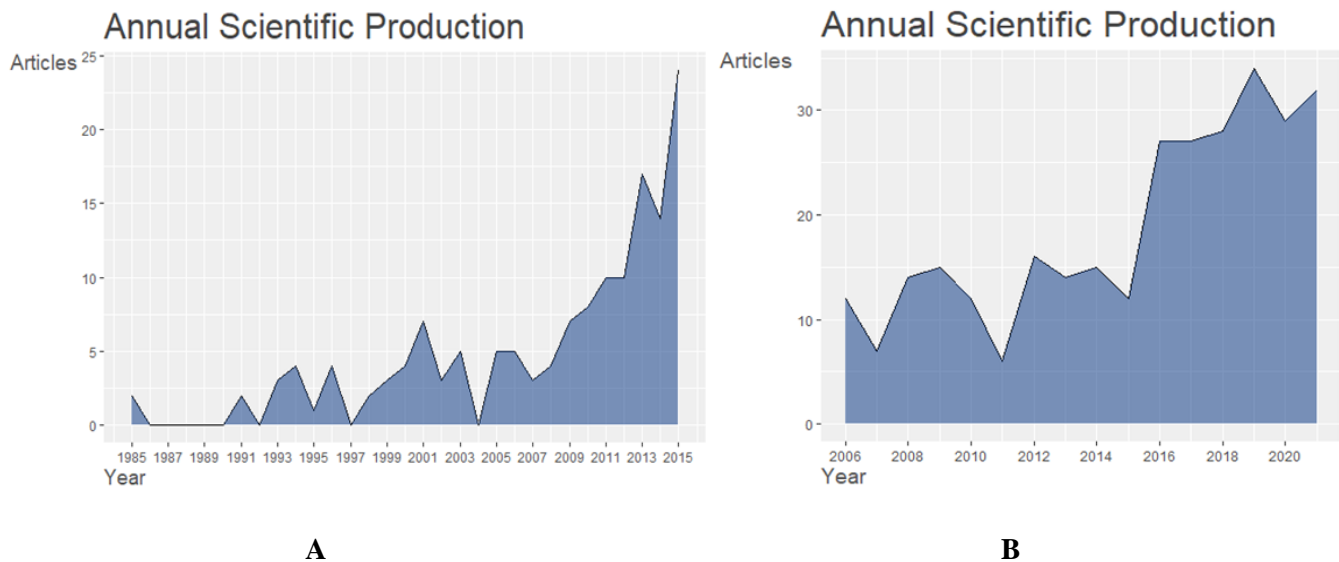


Fig. 4. Producción científica anual. A: Corresponde a producción científica anual desde 1985-2015. B: corresponde a la producción científica de los últimos 15 años.

En la figura 4 A, se puede observar que la producción científica sobre las microalgas enriquecidas con selenio antes del año 2000 era muy baja, pero a lo largo de los años ha aumentado. Es por esto que se decidió acotar la información encontrada en los artículos a un rango donde se concentra el mayor número de publicaciones relacionadas con la temática en cuestión. La figura 4 B representa la producción científica del intervalo de años escogido para este análisis.

3.4 Estrategias para el cultivo de las microalgas enriquecidas con Selenio

El desarrollo de tecnologías para los cultivos de microalgas, adquiere gran protagonismo hoy en día considerando que estas son una gran fuente de alimento funcional con un alto valor nutritivo. Los cultivos de microalgas son considerados una tecnología de mediana complejidad que al tratarse de organismos vivos involucran una serie de parámetros que deben de ser considerados, evaluados y medidos para realizar con éxito un cultivo, además cambian según la especie en cuestión (Hernández-Pérez & Labbé, 2014). Al momento de evaluar las estrategias tecnológicas requeridas para ligar orgánicamente el selenio, es importante tener en cuenta el tipo de microalga, la fuente y concentración de selenio inorgánico.

En cuanto a la especie de microalgas, la elección de las especies a cultivar depende directamente de la finalidad que se le quiera dar a la biomasa. Para propósito de este estudio, se tuvo en cuenta las especies comúnmente utilizadas con fines alimenticios. En este sentido, sólo unas pocas especies de microalgas como las del género *Arthrospira* y *Chlorella* están aprobadas para su consumo en Europa (García et al., 2017).

La tabla 4 resume los resultados encontrados de la revisión bibliométrica con respecto a los factores mencionados anteriormente referentes a la concentración de selenio ligado a proteínas medida en mg de selenoproteína formada por cada kg de biomasa.

Tabla 4. Matriz comparativa del selenio ligado orgánicamente en diferentes especies de microalgas con fuente de selenio variada

Resultado	Microalga	Fuente de Selenio	[Se] Inorganico[mg/L]	[Se] ligado a proteínas [mg/kg]	Referenci a
1	<i>Chlorella Vulgaris</i>	Selenito de Sodio (Na_2SeO_3)	10	658	(Jiru et al., 2021)
2	<i>Spirulina Platensis</i>	Selenato de Sodio (Na_2SeO_4)	0.5	24	(Li et al., 2021)
3	<i>Spirulina Platensis</i>	Selenito de Sodio (Na_2SeO_3)	0.5	67	(Li et al., 2021)
4	<i>Chlorella Sorokiniana</i>	Selenato de Sodio (Na_2SeO_4)	40	88.56	(Gojkovic et al., 2013)
5	<i>Chlorella Vulgaris</i>	Selenito de Sodio (Na_2SeO_3)	0.5	400	(Mylenko et al., 2020)
6	<i>Chlorella Vulgaris</i>	Selenito de Sodio (Na_2SeO_3)	50	857	(Sun et al., 2014)
7	<i>Chlorella Pyrenoidosa</i>	Selenito de Sodio (Na_2SeO_3)	2	72	(Zhao et al., 2019)
8	<i>Chlorella Pyrenoidosa</i>	Selenito de Sodio (Na_2SeO_3)	40	435	(Zhong, 2017)
9	<i>Chlorella Vulgaris</i>	Selenito de Sodio (Na_2SeO_3)	8.5	281	(Babaei et al., 2017)
10	<i>Chlorella Sorokiniana</i>	Selenito de Sodio (Na_2SeO_3)	45	153	(Vítová et al., 2015)
11	<i>Spirulina Platensis</i>	Selenito de Sodio (Na_2SeO_3)	200	460	(Chen et al., 2006)

Los resultados de la tabla 4 muestran que la concentración de selenio en las microalgas se ve afectada según la forma química de la fuente de selenio (selenito o selenato), el suministro de selenio inorgánico en el medio y la especie de microalga. La mayoría de los datos consultados usan como fuente de selenio el selenito de sodio (Na_2SeO_3). Los resultados 2 y 3 reportados por Jiru et al., 2021 se llevaron a cabo bajo las mismas condiciones operacionales, usando la misma microalga y con la misma concentración de selenio inorgánico, sin embargo la concentración de selenio ligado a proteínas es mayor cuando se utiliza selenito de sodio como fuente de selenio. Del mismo modo los estudios realizados con esta fuente de selenio arrojaron valores más altos con respecto a los reportados usando selenato de sodio. Indagando más a fondo de la forma química del selenio inorgánico, Li et al., 2021 reporta un análisis del selenio ligado a proteínas de *S. Platensis* con respecto al selenito y selenato en una misma concentración. En los resultados se evidencia que la microalga tiene una mayor capacidad para absorber el selenito en comparación con el selenato. Estos resultados pueden atribuirse a los diferentes mecanismos de absorción y metabolismo de las microalgas, parcialmente similares a los de las plantas. De forma que el selenito se absorbe principalmente de una manera pasiva con baja afinidad y una vez en la microalga se convierte rápidamente en formas orgánicas de selenio como por ejemplo SetMet (Schiavon et al., 2017). Por el contrario el selenato se absorbe de una manera activa de alta afinidad mediante la facilitación de un transportador de azufre, que lo reduce a selenito y luego este se convierte en compuestos orgánicos (Schiavon et al., 2017). Este proceso intermedio de reducción del selenato consume energía y por ende limita la velocidad de biotransformación, haciendo que se genere una menor absorción de selenio por parte de la microalga.

En cuanto a la concentración de la fuente de selenio, según la tabla 4, un incremento en la cantidad de selenio en el medio resulta en un aumento en la concentración de selenio ligado a proteínas. En los estudios de Gojkovic et al. (2013), se indaga con respecto al efecto de la concentración de la fuente de selenio y el efecto que tiene en el crecimiento de la biomasa y la bioconversión a proteínas en un cultivo continuo. En dicho estudio se reportó que concentraciones superiores a 50 mg/L de selenio presentaba un efecto tóxico en la microalga, el cual se evidenciaba principalmente por la disminución en la biomasa formada, disminución en la actividad fotosintética y acumulación de selenoaminoácidos. Análogamente, los reportes indican que en los resultados 6 y 11 la bioconversión del selenio se da en concentraciones más altas con una cantidad suministrada de selenio inorgánico mayor. Esto se debe a que la sensibilidad de las microalgas a este elemento depende mucho de la especie, de hecho, las concentraciones de selenio que inhiben el crecimiento podrán variar hasta en tres órdenes de magnitud dependiendo de la especie en cuestión (Umysová et al., 2009).

Del mismo modo, si la concentración de selenio intracelular es alta, puede generar toxicidad en las microalgas, es decir, se pueden incorporar en otras proteínas de forma no específica, produciendo estructuras malformadas y causando daños en la estructura fotosintética inhibiendo el crecimiento. La disminución del crecimiento se atribuye en parte a daños en el aparato fotosintético, ya que la ultraestructura del cloroplasto y el transporte de electrones fotosintéticos pueden verse afectados por la producción de ROS (especies reactivas de oxígeno) dependientes de Se (Schiavon et al., 2017).

Los resultados de la tabla 4 también difieren en proporción puesto que la concentración de selenio ligado orgánicamente en las microalgas va a depender también de otros factores como la estrategia de operación empleada (batch/continuo), la inducción de nutrientes especiales e inclusive la fuente de carbono, el pH, la temperatura, la intensidad lumínica y la condición a la cual fue cultivada la microalga de acuerdo a su metabolismo ya sea fotoautótrofo o mixotrófico. Dado lo anterior, la tabla 5 muestra la influencia de las variables nombradas anteriormente con respecto a la concentración de selenio ligado en la biomasa de microalgas.

Tabla 5. Matriz comparativa del selenio ligado orgánicamente en diferentes especies de microalgas teniendo en cuenta las condiciones de operación, el sistema empleado y el modo de operación.

Resultado	Microalga	Condiciones de operación	Sistema empleado	Modo de operación	[Se] ligado a proteínas [mg/kg]	Referencia
1	<i>Chlorella Vulgaris</i>	Temperatura 30 °C, pH -	Digestor de microondas (Berghof)	Batch	658	(Jiru et al., 2021)
2	<i>Spirulina Platensis</i>	Temperatura 25 °C, pH 7.8, iluminación continua	Fotobiorreactor abierto	Batch	24	(Li et al., 2021)
3	<i>Spirulina Platensis</i>	Temperatura 25 °C, pH 7.8, iluminación continua	Fotobiorreactor abierto	Batch	67	(Li et al., 2021)
4	<i>Chlorella Sorokiniana</i>	Temperatura 25 °C, pH 6.7	Fotobiorreactor (recipiente de vidrio)	Fed-Batch	88.56	(Gojkovic et al., 2015)
5	<i>Chlorella Vulgaris</i>	Temperatura 25 °C, pH -, iluminación periódica	Fotobiorreactor alimentado aire libre	Batch	400	(Mylenko et al., 2020)
6	<i>Chlorella Vulgaris</i>	Temperatura 25 °C, pH -	Erlenmeyer	Batch	857	(Sun et al., 2014)
7	<i>Chlorella Pyrenoidosa</i>	Temperatura 25 °C, pH 7.2, iluminación periódica	Fotobiorreactor (columnas de vidrio)	Batch	72	(Zhao et al., 2019)
8	<i>Chlorella Pyrenoidosa</i>	Temperatura 25 °C, pH 6.8, iluminación periódica	Erlenmeyer	Batch	435	(Zhong, 2017)

9	<i>Chlorella Vulgaris</i>	Temperatura 28 °C, pH -, iluminación continua	Fotobiorreactor (columnas de vidrio)	Batch	281	(Babaei et al., 2017)
10	<i>Chlorella Sorokiniana</i>	Temperatura 25 °C, pH -	Biorreactor de capa fina al aire libre	Batch	153	(Vítová et al., 2015)
11	<i>Spirulina Platensis</i>	Temperatura 30 °C, pH 9, iluminación periódica	Erlenmeyer	Batch	460	(Chen et al., 2006)

La mayoría de los estudios reportados en la tabla 5, evalúan la producción de biomasa y selenoproteínas de las microalgas usando un modo de operación por lotes (batch). El modo continuo fue descrito por Gojkovic et al. (2013) en respuesta de que no existía una metodología establecida para la concentración de selenato en funcionamiento continuo que permitiera maximizar la productividad y la bioacumulación de SetMet en la biomasa microalgal. En comparación con los resultados que usaron una concentración similar selenio inorgánico en el cultivo como Vítová et al. (2015), Zhong & Cheng (2017) y Sun et al. (2014), el resultado de Gojkovic et al. (2013) es mucho menor. Una causa probable de esto es que el cultivo se realizó en modo continuo y por tanto los tiempos de residencia fueron insuficientes para que la microalga metabolizara la mayor parte del selenio disponible y por tanto la bioconversión fuera en una menor proporción. Adicionalmente, en los estudios se especifica que en los cultivos Fed Batch la alimentación paulatina de selenio durante la fase de crecimiento evita el efecto inhibitor a altas concentraciones sobre el crecimiento de las microalgas, lo que sugiere una alternativa viable, efectiva y económica para la producción de biomasa microalgal con selenio.

Aunque el cultivo continuo no ha sido comúnmente usado en la producción de microalgas enriquecidas con selenio, este modo de operación tiene varias ventajas entre las que se encuentra que ofrece mayores posibilidades de control de variables influyentes y una mayor productividad de biomasa en comparación con el cultivo por lotes (Peter et al., 2022). De hecho, Gojkovic et al. (2013) afirma tener tasas de crecimiento muy altas para *Chlorella* en comparación con estudios previos en modo batch (Ogawa & Aiba, 1981) y que además el cultivo continuo proporcionó biomasa enriquecida de forma constante, de modo que el cultivo continuo puede ser una herramienta ventajosa para la producción masiva a gran escala de biomasa de microalgas enriquecida. Sin embargo debería de hacerse más estudios usando este modo de cultivo, de tal forma que ejerciendo el debido control sobre otras variables, se pueda obtener un incremento tanto en la biomasa como en la fijación de selenio orgánico en ellas.

Otro de los factores claves en el cultivo de microalgas es la iluminación. La luz es un factor importante que proporciona energía a las microalgas para que puedan llevar a cabo la generación de nueva biomasa. En un fotobiorreactor, la intensidad lumínica es casi siempre un nutriente que se suministra como limitante. Por lo general los cultivos de microalgas funcionan bien cuando son sometidos a fotoperiodos (condiciones de alternancia entre luz y oscuridad) como por ejemplo los sistemas empleados por Mylenko et al. (2020), Zhao et al. (2019) y Chen et al. (2006). Esto debido a que bajo ciclos de luz y oscuridad,

la síntesis de proteínas y otras macromoléculas continúa durante el periodo de oscuridad, a expensas de carbono y de la energía almacenada en los carbohidratos (Guerrero et al., 2017). Por el contrario, con la luz continua, puede ocurrir el fenómeno de fotoinhibición que es cuando se superan los valores de intensidad lumínica admitidos por las células de las microalgas y se inhibe la actividad fotosintética y como consecuencia el crecimiento de esta. La experimentación llevada a cabo por Li et al. (2021) bajo condiciones de iluminación continua, se hicieron en un sistema abierto bajo la luz del sol. Aunque este resulta ser más económico pues no hay costos asociados con la energía, no es posible un control adecuado sobre esta variable lo que induce a que con el tiempo se inhiba el crecimiento de las mismas. Por tanto, pensando el producto como biomasa microalgal enriquecida, no es recomendable un periodo continuo de luz solar en un sistema abierto, sino un sistema fotobiorreactor que permita el control de variables como los periodos de luminiscencia.

Dado lo anterior, podemos observar en la tabla 5 que el sistema empleado en la mayoría de los estudios son fotobiorreactores transparentes los cuales son comúnmente utilizados para aplicaciones biotecnológicas. Lo anterior se debe a que se puede utilizar para una variedad de cultivos que incluyen fermentaciones microbianas, cultivos celulares y microorganismos fotoautótrofos (recipiente transparente) que requieran la captación de la luz en un rango adecuado. Los resultados 2, 3, 5 y 10 usaron sistemas al aire libre, este tipo de sistemas requieren de poca energía y por lo tanto son económicamente viables y fáciles de mantener, sin embargo dependen de la luz natural para la iluminación del cultivo y aunque las instalaciones son económicas, el hecho de ser abiertos presentan dificultades para el control preciso del sistema debido a las variaciones climáticas y son susceptibles a la invasión de otros microorganismos contaminantes lo que puede afectar la captación de selenio y la producción de biomasa. Por el contrario, los sistemas cerrados permiten un importante control de parámetros importantes como temperatura e intensidad lumínica, disminuyendo sustancialmente los problemas presentes en los sistemas abiertos y una productividad volumétrica de biomasa más alta. Además esta configuración cerrada para un cultivo fotoautotrófico, permite producir microalgas de forma heterótrofa añadiendo fuentes de carbono orgánicas, en efecto, la glucosa ayuda a la captación del selenio en las microalgas ya que mantendría una alta tasa de crecimiento celular y daría como resultado una mejora significativa de la biotransformación de Se. *Chlorella* ha sido uno de los géneros pioneros de microalgas que se han cultivado de esta forma para obtener un inóculo de alta densidad (Enzing et al., 2014).

El pH es otro factor determinante en el cultivo de microalgas. Como con otros parámetros, el valor de este va a depender principalmente de la clase de microalga. Para este caso, las especies evaluadas se mantienen en un rango entre 5-9 (tabla 5). El pH cobra gran importancia debido a que tiene efecto sobre la solubilidad de varios compuestos metálicos, de modo que, un aumento de pH puede llegar a ocasionar una deficiencia en algunos elementos traza (Murcia Moreno & Parra Moreno, 2018). Por ejemplo, a diferencia de los metales, que normalmente existen como cationes disueltos en agua, el Se se hidroliza en solución acuosa para formar los oxianiones Se (VI) y Se (IV). Por tanto, estos aniones muestran una mayor solubilidad al aumentar el pH, en contraste con la mayoría de los metales donde se produce el efecto contrario. Los resultados de la literatura sugieren fuertemente que la absorción y / o toxicidad de Se (VI) no se ve afectada por el pH dentro de un rango ambientalmente realista (pH 6-9). (Ponton et al., 2020)

Finalmente, la temperatura es otro parámetro que afecta la composición bioquímica de las microalgas, es proporcional a la producción de biomasa, alcanzando valores óptimos para cada especie. Por encima de esta, aumenta la respiración y la fotorrespiración, reduciendo la productividad (Gonzalez Muñoz et al., 2019). Al igual que otros factores ya mencionados, el óptimo de este valor depende de la especie de microalga. Sin embargo, en términos generales este varía en un rango entre 25-35°C (Hernández-Pérez & Labbé, 2014). Los estudios reportados trabajan a temperaturas que se encuentran dentro de este rango (Tabla 5). Es importante mantener la estabilidad de la temperatura óptima de la microalga, puesto que de esta forma se garantiza un ambiente propicio en donde se lleve a cabo la reacción bioquímica a cabalidad.

4. Conclusiones

Los datos de esta revisión sugieren que dentro de las estrategias tecnológicas que son ventajosas en la incorporación orgánica de selenio en las microalgas destinadas a la alimentación y que permitan obtener el selenio altamente biodisponible se encuentran la fuente de selenio, la estrategia de cultivo, el tipo de biorreactor y la iluminación. La especie química más apropiada como fuente de selenio para el cultivo de microalgas enriquecidas con máxima bioacumulación, es el selenito de sodio (Na_2SeO_3) debido a la rápida asimilación que tiene en la biomasa microalgal de *Arthrospira* y *Chlorella*. Por otro lado, aunque el método más común de los estudios realizados en este tema es un sistema batch, el modo Fed Batch promete tener ventajas, sobre todo pensando a escala industrial. Adicionalmente, se prefiere utilizar un fotobiorreactor cerrado bajo periodos de luz y oscuridad, lo que permite controlar el pH en un rango de 6-9 dependiendo de la especie de microalga y del mismo modo monitorear la temperatura bajo condiciones ambientales. De esta forma se evita una posible inhibición en el crecimiento de la biomasa y se aumenta la solubilidad del selenio para que sea biotransformado en selenoaminoácidos.

5. Referencias

- Alipour, S., Kalari, S., Morowvat, M. H., Sabahi, Z., & Dehshahri, A. (2021). Green Synthesis of Selenium Nanoparticles by Cyanobacterium *Spirulina platensis* (abdf2224): Cultivation Condition Quality Controls. *BioMed Research International*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6635297>
- Babaei, A., Ranglová, K., Malapascua, J. R., & Masojídek, J. (2017). *Puerta de la investigación*. https://www.researchgate.net/publication/314279472_The_synergistic_effect_of_Selenium_selenite_-SeO3_2-_dose_and_irradiance_intensity_in_Chlorella_cultures/link/5fc466cea6fdcc6cc683fadb/download
- Becker, E. W. (2007). Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, 25(2), 207–210. <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2006.11.002>
- Belokobylsky, A. I., Ginturi, E. I., Kuchava, N. E., Kirkesali, E. I., Mosulishvili, L. M., Frontasyeva, M. V., Pavlov, S. S., & Aksenova, N. G. (2004). Accumulation of selenium and chromium in the growth dynamics of *Spirulina platensis*. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 259(1), 65–68. <https://doi.org/10.1023/B:JRNC.0000015807.53132.C0>
- Chen, T., Zheng, W., Wong, Y. S., Yang, F., & Bai, Y. (2006). Accumulation of selenium in mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose. *Bioresource Technology*, 97(18), 2260–2265. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2005.10.038>
- Enzing, C., Ploeg, M., Barbosa, M., & Sijtsma, L. (2014). Microalgae-based products for the food and feed sector: an outlook for Europe. *Institute for Prospective Technological Studies* «fashion nutraceuticals»; en *Microbial Biotechnology* (10); pp. 1017-1024.
- García, J. L., de Vicente, M., & Galán, B. (2017). Microalgae, old sustainable food and fashion nutraceuticals. *Microbial Biotechnology*, 10(5), 1017–1024. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12800>

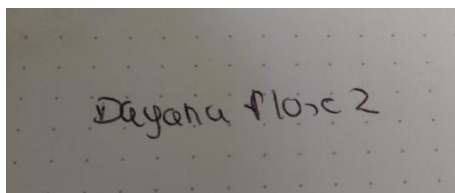
- Gojkovic, Ž., Garbayo-Nores, I., Gómez-Jacinto, V., García-Barrera, T., Gómez-Ariza, J. L., Márová, I., & Vílchez-Lobato, C. (2013). Continuous production of selenomethionine-enriched *Chlorella sorokiniana* biomass in a photobioreactor. *Process Biochemistry*, 48(8), 1235–1241. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.06.013>
- Gojkovic, Ž., Garbayo, I., Ariza, J. L. G., Márová, I., & Vílchez, C. (2015). Selenium bioaccumulation and toxicity in cultures of green microalgae. In *Algal Research* (Vol. 7, pp. 106–116). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.12.008>
- Gómez-Ariza, J. L., García-Barrera, T., Gómez-Jacinto, V., Garbayo, I., & Vílchez, C. (2020). *Las microalgas, nuevos caminos hacia alimentos funcionales*. www.merapharma.com
- González Muñoz, N., Alfaro Vives, O. G., Crespo Sariol, H., Pérez Silva, R. M., & Jover Capote, A. (2019). Temperatura del cultivo mixto de *Chlorella vulgaris* a cielo abierto: incidencia en la concentración de biomasa. *Tecnología Química*, 39(3), 580–591. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852019000300580&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- GQ, Y., SZ, W., RH, Z., & SZ, S. (1983). Endemic selenium intoxication of humans in China. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 37(5), 872–881. <https://doi.org/10.1093/AJCN/37.5.872>
- Guerrero, E., Francisco, C., Camacho, G., & Rosales, L. L. (2017). *UNIVERSIDAD DE ALMERIA ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA TRABAJO FIN DE GRADO “Diseño y puesta a punto de un fotobiorreactor tubular con iluminación LED para cultivo de microalgas.”*
- Hernández-Mendoza, H., & Rios-Lugo, J. (2009). *Rol biológico del selenio en el humano*. www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar
- Hernández-Pérez, A., & Labbé, J. I. (2014). *Microalgas, cultivo y beneficios* *Microalgae, culture and benefits*. 49, 157–173. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>
- Jiru, M., Stranska-Zachariasova, M., Kohoutkova, J., Schulzova, V., Krmela, A., Revenco, D., Koplik, R., Kastanek, P., Fulin, T., & Hajslova, J. (2021). Potential of microalgae as source of health-beneficial bioactive components in produced eggs. *Journal of Food Science and Technology*, 58(11), 1–10. <https://doi.org/10.1007/S13197-020-04896-3/FIGURES/2>
- Li, J., Otero-Gonzalez, L., Michiels, J., Lens, P. N. L., Du Laing, G., & Ferrer, I. (2021). Production of selenium-enriched microalgae as potential feed supplement in high-rate algae ponds treating domestic wastewater. *Bioresource Technology*, 333, 125239. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2021.125239>
- Luis García, J., De Vicente, M., & Galán, B. (2020). *PRESENTE Y FUTURO DEL CULTIVO DE LAS MICROALGAS PARA SU USO COMO SUPERALIMENTOS*.
- MURCIA MORENO, L. J., & PARRA MORENO, M. A. (2018). *PRODUCCIÓN DE PROTEÍNAS A PARTIR DE LA MICROALGA *Chlorella vulgaris* ENRIQUECIENDO EL MEDIO DE CULTIVO CON FUENTES DE*

- Mylenko, M., Vu, D. L., Kuta, J., Ranglová, K., Kubáč, D., Lakatos, G., Grivalský, T., Caporgno, M. P., Da Câmara Manoel, J. A., Kopecký, J., Masojídek, J., & Hrouzek, P. (2020). Selenium Incorporation to Amino Acids in Chlorella Cultures Grown in Phototrophic and Heterotrophic Regimes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(6), 1654–1665.
https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.9B06196/SUPPL_FILE/JF9B06196_SI_001.PDF
- NIH. (2019). ¿Qué es el selenio? ¿Para qué sirve? *National Institutes of Health*.
<http://ods.od.nih.gov/HealthInformation/RecursosEnEspanol.aspx>.
- Ogawa, T., & Aiba, S. (1981). Bioenergetic analysis of mixotrophic growth in *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus*. *Biotechnology and Bioengineering*, 23(5), 1121–1132. <https://doi.org/10.1002/BIT.260230519>
- Peter, A. P., Koyande, A. K., Chew, K. W., Ho, S.-H., Chen, W.-H., Chang, J.-S., Krishnamoorthy, R., Banat, F., & Show, P. L. (2022). Continuous cultivation of microalgae in photobioreactors as a source of renewable energy: Current status and future challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 154, 111852.
<https://doi.org/10.1016/J.RSER.2021.111852>
- Ponton, D. E., Graves, S. D., Fortin, C., Janz, D., Amyot, M., & Schiavon, M. (2020). Selenium Interactions with Algae: Chemical Processes at Biological Uptake Sites, Bioaccumulation, and Intracellular Metabolism. *Plants* 2020, Vol. 9, Page 528, 9(4), 528. <https://doi.org/10.3390/PLANTS9040528>
- Rayman, M. P. (2000). The importance of selenium to human health. *The Lancet*, 356(9225), 233–241.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02490-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02490-9)
- Schiavon, M., Ertani, A., Parrasia, S., & Vecchia, F. D. (2017). Selenium accumulation and metabolism in algae. *Aquatic Toxicology*, 189, 1–8. <https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2017.05.011>
- Sun, X., Zhong, Y., Huang, Z., & Yang, Y. (2014). Selenium Accumulation in Unicellular Green Alga *Chlorella vulgaris* and Its Effects on Antioxidant Enzymes and Content of Photosynthetic Pigments. *PLOS ONE*, 9(11), e112270.
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0112270>
- Umysová, D., Biová, K., Hlavová, M., Íková, M., MacHát, J., Doucha, J., & Zachleder, V. (2009). Bioaccumulation and toxicity of selenium compounds in the green alga *Scenedesmus quadricauda*. *BMC Plant Biology*, 9(1), 1–16.
<https://doi.org/10.1186/1471-2229-9-58/FIGURES/7>
- Vítová, M., Bišová, K., Doucha, J., & Zachleder, V. (2015). Beneficial or toxic effects of selenium on green algae and their application as nutrient supplements or bio-remediators. *Algal Biorefineries: Volume 2: Products and Refinery Design*, 315–338. https://doi.org/10.1007/978-3-319-20200-6_9
- Wang, Y., Wang, Z. J., Huang, J. C., Zhou, C., Zou, H., He, S., & Chen, V. Y. C. (2021). Feasibility of using *Chlorella vulgaris* for the removal of selenium and chromium in water: Competitive interactions with sulfur, physiological

effects on algal cells and its resilience after treatment. *Journal of Cleaner Production*, 313, 127939. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2021.127939>

Zhao, Y., Song, X., Cao, X., Wang, Y., Si, Z., & Chen, Y. (2019). Toxic effect and bioaccumulation of selenium in green alga *Chlorella pyrenoidosa*. *Journal of Applied Phycology* 2019 31:3, 31(3), 1733–1742. <https://doi.org/10.1007/S10811-018-1711-Z>

Zhong, Y., & Cheng, J. J. (2017). Effects of Selenite on Unicellular Green Microalga *Chlorella pyrenoidosa*: Bioaccumulation of Selenium, Enhancement of Photosynthetic Pigments, and Amino Acid Production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(50), 10875–10883. <https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.7B04246>



Isabella Avila A.